Beiträge zur Konstitution der Sabadilla - Alkamine.

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur

Erlangung der Doktorwürde

verfasst und der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Julius - Maximilians - Universität zu Würzburg

vorgelegt von

Gerhard Zeisner

aus

Bad Neustadt/Saale

1954

Die vorliegende Arbeit wurde im Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität Würzburg auf Anregung von Herrn Privatdozent Dr.H.AUTERHOFF ausgeführt. Herrn Dr H. AUTERHOFF danke ich für seine wertvollen Ratschläge.

R.UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Kurzfassung

Tag der mündl. Prüfung:

20. Dez. 1954

Inhaltsverzeichnis.

I. Synthesen von Sterin-Modell- Substanzen und ihr Verhalten gegen TTC 2

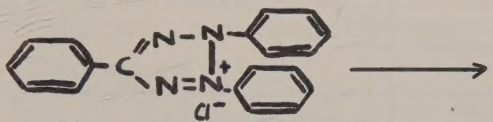
II. Die α-Ketol-Gruppierung des Cevagenins 3

III. Die TTC-Reaktion mit einfachen alicyclischen Ketonen 6

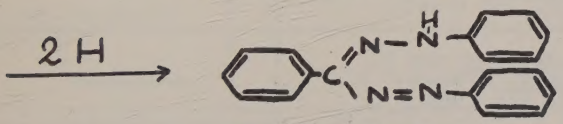
IV. Hydrierungs-Produkte der Sabadilla-Alkamine 9

V. Bromierung der Sabadilla-Alkamine 10

H. Auterhoff (1) fand eine für das Cevagenin spezifische Farbreaktion, die von den Esteralkaloiden Cevadin und Veratridin sowie dem α-Cevin nicht gegeben wird. Cevagenin reduziert nämlich Triphenyl-Tetrazolium-Chlorid im alkalischen Milieu zum roten Formazan-Derivat. I. Hauser, D. Jerchel und R. Kuhn (2) geben für das Reagens folgendes Reaktionsschema an:



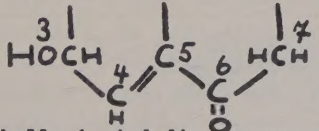
Triphenyl-Tetrazolium-Chlorid (farblos)



Triphenyl-Formazan (rot)

H. Auterhoff (1) hielt die richtige Deutung des Reduktionsvermögens des Cevagenins für die Klärung der Cevin-Cevagenin-Struktur für wichtig und führte dieses auf ein Zusammenwirken des die Säurekomponente tragenden alkoholischen Hydroxyls mit einer Doppelbindung des Moleküls zurück.

Unseren ersten modellsynthetischen Arbeiten legten wir deshalb die folgende Struktur zugrunde:



In der Tabelle 1 sind die von uns synthetisierten Sterinkörper und die dazugehörigen Herstellungsvorschriften angegeben.

---

(1) H. Auterhoff, Arch. Pharmaz. 286/58, 69 (1953).
(2) I. Hauser, D. Jerchel und R. Kuhn, B. 82, 195 (1949).

Tabelle 1 Synthetisierte Sterin-Derivate.

Substanz	Herstellungsvorschrift	Bemerkungen
5,6-Dibromcholesterin	A.Windaus, B. 39, 518 (1906).	Im Gegensatz zu L.und M. Fieser, die einen Smp. von 124° angeben, konnten wir einen scharfen Smp. von 115-116° (Kofler) ermitteln.
Δ^4-Cholestenon (3)		Die Oxydation gelang nur mit Kaliumpermanganat.
3α und 3ß-Δ^4-Cholesterol	H.McKennis und G.W. Gaffney, J.biol.Chem. 175, 217 (1948).	———
Δ^4-Cholestendion(3,6)	J.Mauthner und W. Suida, Monatsh. 17, 579 (1896).	———
3ß-Oxy-Δ^4-Cholestenon(6)		Die Darstellung misslang in mehreren Ansätzen.
"Oxycholestandiol"		———
Cholesterinazetat	Herstellung nach üblichen Methoden.	———
7-Keto-Cholesterinazetat	A.Windaus und Mitarb. Ann. 520, 98 (1935).	———
7-Keto-Cholesterin	S.Bergström und O.Wintersteiner J.biol. Chem. 141, 597 (1941).	———
Reduktionsprodukt aus Δ^4-Cholestendiol (3,6)	Vorschrift analog Δ^4-Cholesterol	———

Dihydro-Cholesterin	A.H.Blatt, Org.Synthesis Colectiv Vol.2 - A revised Edition of Annual Vol. 10-19, Edited by A.H.Blatt Secretary of the Broad Que. Coll. Flushing N.Y. page 191 bzw. 139.	Die Darstellung nach R.Willstätter und E.Mayer B. 41,2199 (1908), misslang in mehreren Ansätzen.
Cholestanon(3)		———
2-Brom-Cholestanon(3)	A.Wolf und A.Butenandt, B. 68, 209 (1935).	———
2-Azetoxy-Cholestanon(3)	L.Ruzicka und Mitarb. Helv. chim.Acta 21, 866 (1935).	Das Präparat konnte nicht schmelzpunktrein erhalten werden.
2-Oxy-Cholestanon(3)		Die Substanz fiel nur als schmierige Masse an und war nicht kristallisierbar.

Alle diese Substanzen unterwarfen wir der TTC-Reaktion, die folgendermassen ausgeführt wurde: 10mg Substanz wurden mit 1ml 1%iger wässriger TTC-Lösung und 1ml n-Natronlauge versetzt und unter öfterem Umschütteln stehen gelassen.

In der Tabelle 2 sind die Ergebnisse der TTC-Reaktion aufgeführt. Es geht daraus hervor, dass 2-Oxy-Cholestanon(3) mit TTC reagiert. Ebenso reagierte eine alkoholische Lösung von 2-Monobromcholestanon(3) positiv.

Tabelle 2 Vergleichende TTC-Reaktionen mit Sterin-Derivaten.

Substanz nach	1	2	3	4	Stunden
Dibromcholesterin	-	-	-	-	
Δ^4-Cholestenon(3)	-	-	-	-	
Δ^4-Cholestendion(3,6)	-	-	-	-	
Δ^4-3ß-Cholesterol	-	-	-	-	
Δ^4-3α-Cholesterol	-	-	-	-	
Δ^5-3ß-Cholesterol	-	-	-	-	
Acetylcholesterol	-	-	-	-	
7-Ketocholesterinacetat	-	-	-	-	
7-Ketocholesterol	-	-	-	-	
Reduktionsprodukt mit $LiAlH_4$ aus Δ^4-Cholestendion(3,6)	-	-	-	-	
Dihydrocholesterin	-	-	-	-	
Cholestanon(3)	-	-	-	-	
2-Monobromcholestanon(3)	-	+	+	+	
2-Acetoxycholestanon(3)	-	-	-	-	
2-Oxycholestanon(3)	+	+	+	+	
TTC (Blindversuch)	-	-	-	-	

II.

Unter einfacheren Modellsubstanzen fanden wir in α-Oxy-cyclohexanon, dem sog. Adipoin, eine Substanz, die in ihren Eigenschaften weitgehend Cevagenin gleicht: Erstens stimmen die UV-Absorptionskurven in neutraler und alkalischer Lösung überein, und zweitens reduziert

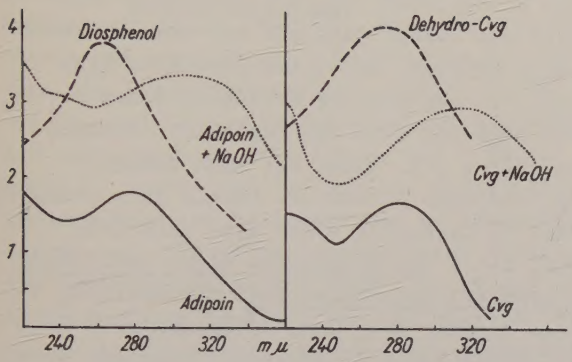
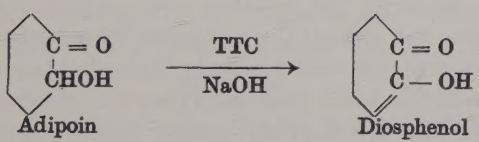


Abb. 1. UV-Absorptionskurven des Adipoins, Cevagenins und ihrer Derivate.

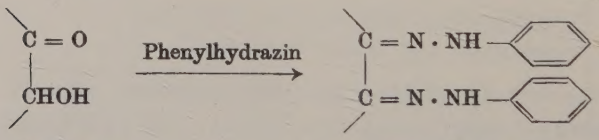
Adipoin TTC im alkalischen Medium ebenso schnell wie Cevagenin. Dabei entstehen Stoffe, die wiederum gleiche Eigenschaften besitzen. Die Übereinstimmung der UV-Absorptionskurven ist aus Abbildung 1 zu ersehen.

Die einfache Modellsubstanz, Adipoin, gestattet nun die Identifizierung des durch Einwirkung von TTC entstehenden Produktes. Aus Adipoin entsteht dabei ein "Diosphenol".



Das Diosphenol wurde durch Schwarz-Grün-Färbung mit Eisen(3)chlorid, durch Gelbfärbung mit Titan(3)-chlorid und durch Übereinstimmung der UV-Absorptionskurve mit derjenigen einer authentischen Substanz bewiesem.

Aus Cevagenin entsteht durch TTC-Einwirkung das von uns bereits beschriebene Dehydro-Cevagenin (3). Auch dieses gibt mit Eisen(3)chlorid die charakteristische Schwarz-Grün-Färbung, mit Titan(3)chlorid eine Gelbfärbung, und das Maximum der UV-Absorptionskurve entspricht nach Lage und Höhe den für Sterin-Diosphenole bekannten Werten (4). Somit hat auch Dehydro-Cevagenin eine Diosphenol-Struktur. Daraus muss geschlossen werden, dass im Cevagenin - wie dies auch beim Adipoin der Fall ist - die Ketogruppe einem sekundärem alkoholischen Hydroxyl benachbart ist. Ein weiterer Beweis für diese Annahme ist, dass Cevagenin mit Phenylhydrazin-hydrochlorid in wässriger Natriumazetat-Lösung beim Kochen ein Osazon liefert (5):



Cevagenin — Cevagenin-Osazon

III.

Cyclische α-Keto-Alkohole der Gruppierung -CHOH-CO- reagieren mit Triphenyl-Tetrazolium-Chlorid in alkalischem Milieu rasch und quantitativ unter Bildung von Diosphenolen. Wir konnten dies am Beispiel des Adipoins und des Sabadilla-Alkamins Cevagenin zeigen (5). Die von uns untersuchten alicyclischen Ketone - es handelte sich hauptsächlich um Sterinderivate - , die an dem der Carbonylgruppe benachbarten

(3) H. Auterhoff, Arch. Pharn. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. 286/58, 319 (1953).

(4) L. und M. Fieser, Natur. Products relat. to Phenanthrene, Reinhold publish. Corporation, N. Y. 1949, 3. Ausgabe, S. 195.

(5) H. Auterhoff und G. Zeisner, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. 286/58, 525 (1953).

Kohlenstoffatom kein sekundäres alkoholisches Hydroxyl enthielten, ergaben mit TTC unter den gleichen Versuchsbedingungen keine Reaktion. Eine Formazanabscheidung setzte bei manchen der untersuchten Substanzen erst ein, wenn die Laugenkonzentration erhöht wurde. Während bei Adipoin und Cevagenin für einen quantitativen Verlauf der Reaktion 0,5n-Natronlauge bei 0,5%iger TTC-Lösung genügte, musste bei den nun als Modelle dienenden Cyclohexanon und Cyclopentanon n/1-Natronlauge verwendet Werden. TTC selber erfährt erst Veränderungen, wenn die Laugenkonzentration über 1,5n hinaus erhöht wird. An äquimolaren Ansätzen von Cyclohexanon bzw. Cyclopentanon mit TTC in n/1- Natronlauge wurde die Abhängigkeit der Formazan-Abscheidung von der Zeit bestimmt. Das Ergebnis ist aus der Abb.2 zu ersehen.

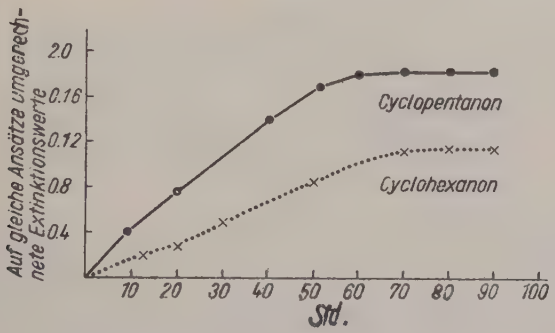
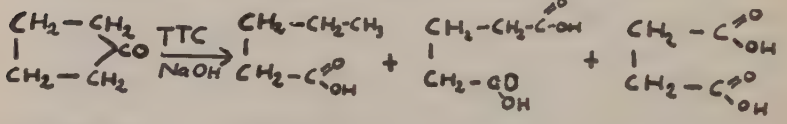


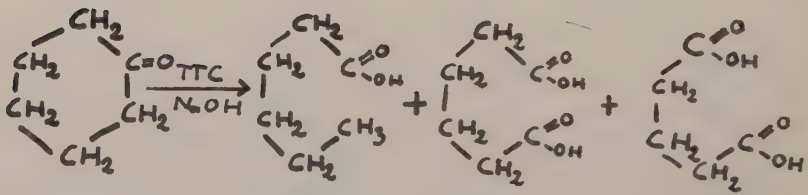
Abb.2 Abhänigkeit der Formazanabscheidung von der Zeit durch Cyclopentanon bzw. Cyclohexanon aus TTC.

Um festzustellen, welche Substanzen bei der Reaktion mit TTC aus Cyclohexanon und Cyclopentanon entstehen, wurden einige Ansätze präparativ aufgearbeitet. Die zunächst vermutete Analogie zur Dehydrierung von α-Ketolen zu Diosphenolen, die zu Cyclohexen(1)on(2) bzw. Cyclopenten(1)on(2) (-C=C-CO-) hätte führen müssen, konnte nicht bestätigt werden. Da es sich offensichtlich um ein Stoffgemisch handelte und klassische Methoden der

Identifizierung bei unseren relativ geringen Substanzmengen versagten, führten wir die Charakterisierung papierchromatographisch nach der Methode von A. G. Long, J. R. Quagh und R. J. Stedman (6) durch. Das Reaktionsprodukt aus der Umsetzung von Cyclohexanon mit TTC erkannten wir als Gemisch von Adipinsäure, Capronsäure und Glutarsäure; aus Cyclopentanon entstehen unter den gleichen Bedingungen Glutarsäure, n-Valeriansäure und Bernsteinsäure.



Cyclopentanon n-Valeriansr. Glutarsr. Bernsteinsr. (entsteht nicht durch alkal. Hydrolyse ohne TTC).



Cyclohexanon Capronsr. Adipinsr. Glutarsr. (entsteht nicht durch alkal. Hydrolyse ohne TTC).

Aus Cyclohexanon erhielten wir durch TTC-Oxydation nur 6,5% der angesetzten Menge als Carbonsäuren wieder, aus dem leichter zu spaltenden Cyclopentanon 65%. Parallel wurden beide Substanzen hydrolysiert, indem wir sie unter häufigem Umschütteln ohne TTC-Zusatz 4 Tage stehen liessen; aus Cyclohexanon entstanden nur Adipinsäure und Capronsäure. Die durch TTC-Einwirkung gleichzeitig vor sich gehende Weiteroxydation zu Glutarsäure war hierbei nicht nachzuweisen. Analog entsteht bei der Hydrolyse von Cyclopentanon ohne TTC keine Bernsteinsäure. Der Cyclo-

---

(6) A.G.Long, J.R.Quagh und R.J.Stedman, J.chem.Soc. (London), 1951, 2197.

hexanon-Versuch bestätigt dabei die Angaben von G.Ciamician und P.Silber (7), die Cyclohexanon 6 Monate lang in wässriger Suspension in Gegenwart von Sauerstoff unter Belichtung hydrolysierten und die Entstehung von Capronsäure und Adipinsäure konstatierten. (8)

IV.

Die hypothetische Anwesenheit einer Doppelbindung im Veracevin bzw. α-Cevin veranlasste uns, alle isomeren Formen der Veratrin-Alkamine zu hydrieren. Die Eigenschaften der 5 von uns gefundenen Hydro-Produkte sind in der Tabelle 3 zusammengestellt. (Lit.: H.Auterhoff (9)).

Tabelle 3 Eigenschaften der Hydro-Alkamine.

Substanz	Smp.(Kofler)	$[\alpha]_D^{19°}$ (1 dm, 1%ig.Lsgg. in Äthanol)	$[\alpha]_D^{15°}$ (1 dm, 1%ig.Lsgg. in Methanol)	Bemerkungen
Dihydro-Cevin(I)	230-245° (ab 210° entstehen charakteristische Platten, die bei 262-265° schmelzen)	- 9°	- 6°	Aus α-Cevin mit Raney-Ni od. Pt-Kat. Wird durch Aether gefällt.
Dihydro-Cevin(II)	262°	- 18°	- 12°	Aus α-Cevin mit Raney-Ni od. Pt-Kat. Krist. aus Methanol + H_2O.
Dihydro-Cevagenin(III)	255°	- 48°	- 43°	Aus Cvg. mit Raney-Ni od. Pt-Kat. Alum.Oxyd.-Reinig. ist geeignet; krist aus Meth.
Dihydro-Veracevin (IV)	280°	- 34°	- 33°	Aus Veracevin mit Pt-Kat. krist aus Aether.
Dihydro-Alkamin (B)	263° (ab etwa 210° charakter. Nadeln).	- 23°	- 21°	Aus α-Cevin, Cvg. od. Veracevin mit Butanol-Na; krist aus Methanol mit viel Wasser.

(7) G.Ciamician und P.Silber, B.46,3077(1913).

(8) H.Auterhoff und G.Zeisner, Arch.Pharmaz. Sonderh. K.W. Rosenmund, 1954.

V.

Um eine Doppelbindung im Veracevin bzw. α-Cevin ausschliessen zu können, untersuchten wir auch das Verhalten der Alkamine gegenüber Brom. Die in der älteren Literatur beschriebenen Versuche von F.B.Ahrens (10) konnten für unsere Fragestellung nicht ausgenutzt werden, da er Veratrin, als ein Gemisch der Esteralkaloide mit ungesättigter Angelika- und aromatischer Veratrum-Säure-Komponente, der Bromierung unterworfen hatte.

Versetzt man Veracevin bzw. α-Cevin - Lösungen in Chloroform mit frisch bereiteter Brom-Chloroform-Lösung, so entstehen sofort gelbe Fällungen. Die mit Chloroform gewaschenen und im Vakuum-Exsikkator getrockneten Substanzen haben keine definierten Schmelzpunkte, sondern zersetzen sich bei etwa 100°. Sie enthalten elementares Brom und Brom-Ion in nicht genau zu reproduzierenden Mengenverhältnissen. Durchschnittlich ermittelten wir für Veracevin und α-Cevin Zusammensetzungen von $C_{27}H_{43}O_8N.(2\ Br).(HBr)$. Löst man die Additionsverbindungen in wenig Alkohol und setzt Aether hinzu, so kristallisieren farblose Substanzen aus, die frei von elementarem Brom sind und nur noch Brom-Ion enthalten : $C_{27}H_{43}O_8N.HBr$.

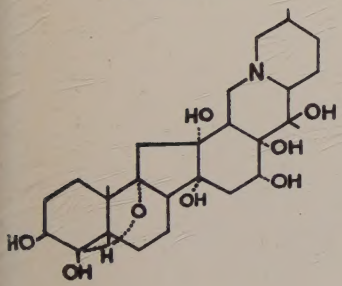
Cevagenin verhält sich bei der Bromierung anders. Der lockernde Einfluss der Keto-Gruppe bewirkt eine Substitution eines der Keto-Gruppe benachbarten H-Atoms durch Brom. Die in chloroformiger Lösung ausfallenden Produkte entsprechen in etwa der Zusammensetzung : $C_{27}H_{42}O_8N.Br.Br.HBr$. Nach der Umkristallisation ist die Zusammensetzung : $C_{27}H_{42}BrO_8N.HBr$. Mit Ammoniak wird das Brom wieder abgespalten, wobei ein diosphenolartiger Körper entsteht. (Lit.9).

---

(9) H.Auterhoff, Arch.Pharmaz. 287/59, 380 (1954).
(10) F.B.Ahrens, B. 23, 2700 (1890).

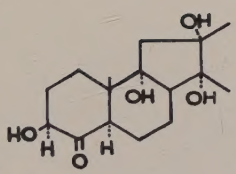
Nach Fertigstellung der vorliegenden Arbeit erhielten wir Kenntnis von einer Veröffentlichung von B.H.R.Barton (London), O. Jeger, V.Prelog (Zürich) und R.B.Woodward (Cambridge, USA) (11). Auf Grund einer Anzahl noch nicht veröffentlichter Arbeiten (mindestens 8), an denen 20 Autoren beteiligt sind werden Formelvorschläge gemacht, die mit unseren Ergebnissen im Einklang stehen :

VERACEVIN



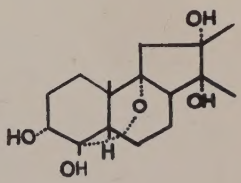
3ß-Hydroxy-4,9-oxido-Derivat der Sterin-Normal-Reihe.

CEVAGENIN



3ß-Hydroxy-4-keto-Derivat der Sterin Allo-Reihe.

α-CEVIN



3α-Hydroxy-4,9-oxido-Derivat der Sterin-Normal-Reihe.

(11) D.H.R.Barton, O.Jeger und V.Prelog, R.B.Woodward, Experientia 10, 81 (1954).

RUDOLF BAEHR DRUCK- UND WERBETECHNIK
WÜRZBURG KOLOFFSTEINSTR. 5